

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental untuk mengetahui terdegradasi atau tidaknya TEL dalam liposom EPC-TEL 2,5 oleh hepar mencit secara *in vivo*.

#### 3.2. Identifikasi Variabel

Variabel bebas : Durasi liposom EPC-TEL 2,5 pada mencit C3H dari injeksi sampai pembedahan.

Variabel terikat : Terdegradasi atau tidaknya TEL dalam liposom EPC-TEL 2,5.

Dalam menentukan variabel bebas, peneliti menggunakan skala nominal (kontrol dan 1 jam). Untuk mengukur variabel terikat, peneliti menggunakan skala nominal (terdegradasi atau tidak).

#### 3.3. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Departemen Farmasi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan Maret 2007 sampai dengan Maret 2008.

#### 3.4. Definisi Operasional

Dalam penelitian ini, ada beberapa istilah yang harus dijelaskan secara eksplisit sehingga tidak menimbulkan salah persepsi dalam pemahamannya, antara lain:

- Degradasi adalah pemecahan suatu senyawa kimia kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih kecil dan kurang kompleks, yang merupakan senyawa penyusunnya.
- *In vivo* merupakan suatu istilah untuk menyatakan 'di dalam suatu organisme yang hidup'.
- Tetraeter lipid adalah suatu jenis lipid hasil ekstraksi dari archaea, yang pada penelitian ini berasal dari *Thermoplasma acidophilum*.

- EPC-TEL 2,5 adalah formulasi liposom yang mengandung lesitin/fosfatidil kolin kuning telur (*egg yolk phosphatidyl choline* = EPC) dan TEL 2,5 mol % dari *Thermophilus acidophilum*.
- Injeksi intraperitoneal adalah suatu metode penyuntikan untuk memasukkan suatu substansi ke dalam rongga peritoneal.
- Mencit merupakan hewan percobaan, yang digunakan dalam penelitian ini, yang berasal dari galur C3H.
- *Rf* merupakan jarak bercak dari titik awal dibagi jarak titik awal ke batas akhir elusi.
- Terdegradasi adalah jika pada kelompok perlakuan terdapat bercak selain bercak pada kontrol dengan TEL dengan *Rf* yang berbeda
- Tidak terdegradasi adalah jika seluruh bercak pada kelompok perlakuan mempunyai *Rf* yang sama dengan bercak pada kelompok kontrol dengan TEL.

### 3.5. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah mencit galur C3H jantan dan betina hasil *breeding* di Departemen Patologi Anatomi FKUI.

### 3.6. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi sampel yang digunakan adalah mencit galur C3H berusia 12- 16 minggu dengan berat 18-24 g.

### 3.7. Besar Sampel

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian induk. Penelitian induk merupakan penelitian mengenai stabilitas biologik TEL. Untuk mengetahui degradasi TEL secara kontinu, maka penelitian induk terbagi atas 5 kelompok perlakuan berdasarkan interval waktu yang berbeda yaitu kelompok yang diamati degradasi TELnya dalam hepar 30 menit, 1 jam, 2 jam, 4 jam, dan 8 jam setelah injeksi liposom. Ditambah dengan kelompok kontrol, yaitu kelompok yang tidak diinjeksi liposom, maka sampel penelitian terdiri dari 6 kelompok.

Kemudian besar sampel penelitian ini dihitung dengan rumus Federer:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap kelompok

t = jumlah kelompok

Dari rumus di atas dapat dilakukan perhitungan besar sampel sebagai berikut:

t = 6, maka didapatkan:

$$(n-1) (6-1) \geq 15$$

$$(n-1) 5 \geq 15$$

$$(n-1) \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Dari hasil perhitungan di atas, jumlah mencit yang akan dijadikan sampel dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 ekor untuk setiap kelompok. Sehingga jumlah total sampel pada penelitian induk adalah 24 ekor mencit.

Akan tetapi dalam penelitian yang penulis teliti, penulis hanya menganalisis dan membahas degradasi TEL pada 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok dengan perlakuan, yang diamati degradasi TELnya dalam hepar 1 jam setelah injeksi liposom. Sehingga jumlah hewan yang digunakan dalam penelitian penulis adalah sebanyak 8 ekor, terbagi dalam 2 kelompok, dengan masing-masing kelompok memiliki sampel 4 ekor mencit yang dipilih secara acak. Adapun kelompok perlakuan yang lain, diteliti oleh rekan peneliti yang lain.

Perlu diketahui bahwasanya kelompok kontrol merupakan kelompok pembandingan yang digunakan bersama-sama sehingga kontrol yang digunakan oleh penulis merupakan sampel yang sama dengan yang digunakan oleh rekan peneliti lain yang tergabung dalam penelitian induk.

### **3.8. Alat dan Bahan**

#### **Hewan coba:**

- Delapan ekor mencit C3H jantan dan betina hasil *breeding* di Departemen Patologi Anatomik FKUI.

**Bahan:**

- Liposom EPC-TEL 2,5 (TEL dari *Thermoplasma acidophilum* diperoleh dari IFB Halle, Jerman; *egg-yolk phosphatidylcholine* (EPC) dari Lipoid®)
- Kloroform
- Etanol
- Larutan Bufer PBS
- Metanol
- Etil asetat
- NaOH 0,01M
- Eter
- Larutan NaCl 0,9%
- Tembaga asetat 3%
- Asam fosfat 8%
- Gas N<sub>2</sub>

**Alat:**

- Labu 250 mL
- *Beads*
- *Rotavapor-vacuum pump-waterbath* Büchi
- Alat sentrifugasi Sorvall Biofuge Primo
- Tabung sentrifugasi
- Tabung kimia
- Gelas ukur
- *Micropipette* Socorex
- *Microliter Syringes* Hamilton
- *Homogenizer* Lurex®
- Kertas saring Whatman
- Toplek
- *Chamber*
- Pipet

- Set alat bedah minor
- Sarung tangan
- Spuit 27 G
- Timbangan gram
- Timbangan milligram
- Timbangan mikrogram Mettler AE 200
- Lembar KLT *silica gel* 60 F254 Merck
- Komputer dan *scanner*
- *Oven*
- *Hairdryer*

### 3.9. Cara Kerja<sup>6,19-21</sup>

Penelitian ini terdiri dari 4 gelombang dengan masing-masing gelombang menggunakan 2 mencit yaitu 1 mencit perwakilan dari setiap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol adalah kelompok mencit yang diinjeksi larutan NaCl fisiologis secara intraperitoneal sebanyak 0,5mL dan segera dieuthanasia, kemudian diangkat heparinya. Sedangkan kelompok perlakuan yang penulis teliti adalah kelompok mencit yang diinjeksi TEL secara intraperitoneal sebanyak 0,5 mL dan dieuthanasia 1 jam setelah injeksi, kemudian diangkat heparinya.

Tahap cara kerja terdiri atas preparasi liposom, injeksi liposom pada mencit dan pengambilan hepar, ekstraksi hepar, preparasi kalibrasi, dan kromatografi lapis tipis. Liposom selalu dibuat baru pada setiap gelombang untuk menghindari adanya kesalahan dalam penyimpanan. Pada setiap gelombang dilakukan tahap cara kerja yang sama.

Terdapat beberapa cara kerja yang dilakukan bersama-sama dengan rekan peneliti lain yang tergabung dalam peneliti induk, yaitu tahap preparasi liposom dan kromatografi lapis tipis. Hal ini dilakukan semata-mata untuk alasan efisiensi waktu dan agar dapat mengetahui tingkat degradasi TEL pada setiap kelompok perlakuan secara runtun.

#### Tahap I – Preparasi Liposom

Preparasi liposom EPC-TEL 2,5 menurut metode yang dikembangkan oleh Purwaningsih:<sup>8</sup>

1. Menyiapkan labu ukuran 250 mL yang telah dicuci dengan air tanpa sabun berulang kali, setelah itu dibilas dengan etanol teknis dan dikeringkan.
2. Menyediakan EPC dan TEL

EPC dan TEL disiapkan menurut kelompok yang tersedia pada penelitian induk yaitu terdiri dari 24 mencit, terbagi menjadi 6 kelompok (kontrol, perlakuan 1 (30 menit), perlakuan 2 (60 menit), perlakuan 3 (2 jam), perlakuan 4 (4 jam), dan perlakuan 5 (8 jam)). Pelaksanaan penyuntikan dibagi menjadi 4 gelombang, masing-masing terdiri dari 6 mencit yang merupakan perwakilan dari masing-masing kelompok.

Jumlah EPC dan TEL per gelombang dihitung untuk minimal jumlah sampel + (jumlah sampel x 10%), yaitu minimal  $6 + (6 \times 10\%) = 7$  mencit. Untuk meminimalisasi kemungkinan kesalahan dalam pengambilan bahan yaitu kurangnya pengambilan bahan, maka jumlah EPC dan TEL dihitung lebih dari sejumlah mencit yang dibutuhkan yaitu menjadi 8 mencit.

**Perhitungan jumlah TEL yang dibutuhkan:**

- Berat molekul TEL ~ 1488,4
- $1 \text{ mol} = \text{BM} / \text{L} = 1488,4 \text{ g/L}$
- $1 \text{ mol} = 1488,4 \text{ mg/mL}$
- $1 \text{ mmol} = 1,4884 \text{ mg/mL}$
- $0,1 \text{ mmol} = 0,14884 \text{ mg/mL}$

Maka jumlah TEL yang dibutuhkan per gelombang:

- $8 \text{ mencit} \times @ 0,1 \text{ mmol} = 8 \times 0,14884 \text{ mg} = 1,1904 \text{ mg} \approx 1,2 \text{ mg}$

**Perhitungan jumlah EPC yang dibutuhkan:**

- TEL = 2,5% EPC
- Sehingga mol EPC: mol TEL = 40:1
- TEL yang digunakan yaitu 0,1 mmol, maka EPC yang digunakan adalah 4 mmol @ mencit.
- $1 \text{ mmol EPC} = 0,78 \text{ mg}$
- Sedangkan untuk 1 mencit dibutuhkan 4 mmol.

Maka jumlah EPC yang dibutuhkan per gelombang:

- $8 \text{ mencit} \times @ 4 \text{ mmol} = 8 \times 4 \times 0,78 \text{ mg} = 24,46 \approx 25 \text{ mg}$
3. Memasukkan EPC dan TEL (sesuai perhitungan), *beads*, dan campuran kloroform etanol 1:1 sebanyak 10 mL ke dalam labu.
  4. Memutar labu dengan Rotavapor buchi.
    - Mula-mula dengan kecepatan sedang dan tekanan 200 mBar.
    - Setelah volume yang tersisa dalam labu menjadi setengah volume awal, kecepatan ditingkatkan dengan tekanan tetap.
    - Ketika cairan sudah mulai kering, tekanan diturunkan bertahap sampai 30-40 mBar dan dibiarkan selama  $\pm 1$  jam.
    - Saat *beads* sudah tidak bergerak, dibiarkan selama 1-2 jam.
    - Setelah liposom kering, rotavapor dimatikan. Sebelum dimatikan tekanan dinaikkan sampai 960 mBar, kecepatan diturunkan, kemudian dimatikan.
  5. Menyiapkan bufer PBS dengan pH 7,4. PBS yang dibutuhkan yaitu 0,5 mL tiap mencit. Sehingga banyaknya bufer PBS yang dibutuhkan per gelombang adalah  $0,5\text{mL} \times 8 = 4\text{mL}$ .
  6. Memasukkan PBS ke dalam tabung untuk melarutkan liposom.

## **Tahap II – Injeksi Liposom pada Mencit dan Pengambilan hepar**

1. Mengambil mencit dengan cara *random sampling* dan diberi nomor untuk identifikasi kelompoknya agar tidak tertukar dengan kelompok lain.
2. Menimbang dan mencatat berat mencit kelompok kontrol dan perlakuan (1 jam).
3. Menginjeksi liposom sebanyak 0,5 mL ke dalam mencit kelompok perlakuan secara intraperitoneal dan mencatat waktu injeksi.
4. Mengeuthanasia mencit kelompok perlakuan dengan eter 1 jam setelah injeksi intraperitoneal.
5. Mengambil hepar mencit dengan membedahnya.
6. Meneteskan NaCl 0,9 % secukupnya pada hepar selama pembedahan.

7. Menimbang hepar dan mengambil sebanyak 200 mg tiap sampel, kemudian dikemas dalam alumunium *foil* lalu disimpan dalam wadah berisi *dry ice* dan dimasukkan dalam *freezer*.
8. Menginjeksi NaCl 0,9 % sebanyak 0,5 mL ke dalam mencit kelompok kontrol secara intraperitoneal.
9. Mengeuthanasia mencit kelompok kontrol dengan eter segera setelah injeksi intraperitoneal.
10. Mengambil hepar mencit dengan membedahnya
11. Meneteskan NaCl 0,9 % secukupnya pada hepar selama pembedahan.
12. Menimbang hepar
13. Hepar dipotong dan diambil 2 potongan dengan berat masing-masing 200 mg. Potongan pertama dinamakan kontrol, sedangkan potongan kedua dinamakan kontrol dengan TEL. Kontrol dengan TEL merupakan hepar mencit kelompok kontrol yang akan ditambahkan TEL secara *in vitro* pada saat proses homogenasi.
14. Hepar dikemas dalam alumunium *foil* lalu disimpan dalam wadah berisi *dry ice* dan dimasukkan dalam *freezer*.
15. Data mengenai berat mencit keseluruhan dan berat heparnya terlampir (Lampiran 2.).

### **Tahap III -- Ekstraksi hepar**

1. Menghomogenasi masing-masing hepar yang telah disiapkan pada tahap II dengan *homogenizer* Lurex.
2. Khusus pada hepar kontrol dengan TEL, ditambahkan 0,5 mL liposom EPC-TEL 2,5 secara *in vitro* dan kemudian dihomogenasi.
3. Menyiapkan 2 mL metanol, kemudian meneteskannya sedikit demi sedikit ke dalam homogenizer selama proses homogenasi.
4. Melakukan sentrifugasi terhadap hepar yang telah terhomogenasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit.
5. Memisahkan antara supernatan dan residu dari hasil sentrifugasi tersebut, kemudian diberi label supernatan I dan residu I.
6. Menghomogenasi residu I.



7. Menyiapkan 2 mL metanol, kemudian meneteskannya sedikit demi sedikit ke dalam homogenizer selama proses homogenasi pada residu I.
8. Melakukan sentrifugasi residu I dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit.
9. Melakukan pemisahan kembali antara supernatan dan residu, kemudian diberi label supernatan II dan residu II.
10. Mencampurkan supernatan I dan II kemudian dikeringkan dengan gas N<sub>2</sub>, yang disebut residu III.
11. Melarutkan residu III dengan 1,5 mL etil asetat dan 0,5 NaOH 0,01 M, yang disebut supernatan III.
12. Melakukan sentrifugasi terhadap supernatan III dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit.
13. Melakukan pemisahan kembali antara supernatan dan residu, kemudian diberi label supernatan IV dan residu IV.
14. Mengeringkan supernatan IV dan residu IV dengan gas N<sub>2</sub>, yang kemudian diberi label supernatan V dan residu V.

#### **Tahap IV -- Persiapan Kalibrasi**

1. Pada awalnya, kalibrasi dibuat dengan menggunakan TEL dengan konsentrasi 75 µg, 150 µg, dan 300 µg.

TEL yang tersedia adalah 15,2 mg dalam 10,1 mL, maka untuk mendapatkan konsentrasi 75 µg, 150 µg, dan 300 µg digunakan perhitungan:

15,2 mg TEL dalam 10,1 mL maka

$$1 \text{ mL} = 15,2 \text{ mg}/10,1 \text{ mL} = 1,504 \text{ mg/mL}$$

X = volume yang dibutuhkan

$$X/1\text{mL} \times 1,504 \text{ mg} = 75 \text{ µg}$$

$$X/1\text{mL} \times 1,504 \text{ mg} = 75 \text{ mg} \times 10^{-3}$$

$$X = 75/1,504 \text{ mL} \times 10^{-3}$$

$$X = 49,8670212 \text{ mL} \times 10^{-3}$$

$$X \approx 50 \text{ mL.}$$

Dapat disimpulkan bahwa tiap pengambilan 50 µL didapatkan konsentrasi TEL sebesar 75 µg. Maka:

- untuk kalibrasi 75 ug dibutuhkan 50  $\mu\text{L}$ .
- untuk kalibrasi 150 ug dibutuhkan 100  $\mu\text{L}$ .
- untuk kalibrasi 300 ug dibutuhkan 200  $\mu\text{L}$ .

Sebelum penelitian yang penulis lakukan, terdapat uji pendahuluan. Pada pengujian tersebut TEL dengan konsentrasi 75  $\mu\text{g}$ , 150  $\mu\text{g}$ , dan 300  $\mu\text{g}$  diaplikasikan pada Lembar KLT. Hasil pengujian menunjukkan bercak TEL tidak terlihat jelas. Agar bercak TEL dapat terlihat lebih jelas maka konsentrasi kalibrasi dinaikkan 100  $\mu\text{g}$ , 200  $\mu\text{g}$ , dan 300  $\mu\text{g}$ .

2. Menyiapkan kalibrasi dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g}$ , 200  $\mu\text{g}$ , dan 300  $\mu\text{g}$ .

TEL yang tersedia adalah 90 mg dalam 4,5 mL campuran kloroform-metanol 2:1, maka untuk mendapatkan konsentrasi 100  $\mu\text{g}$ , 200  $\mu\text{g}$ , dan 300  $\mu\text{g}$ , digunakan perhitungan:

90 mg TEL dalam 4,5 mL maka

X = volume yang dibutuhkan

$$X/4,5 \text{ mL} \times 90 \text{ mg} = 100 \mu\text{g}$$

$$X/4,5 \text{ mL} \times 90 \text{ mg} = 100 \text{ mg} \times 10^{-3}$$

$$X = 450/90 \text{ mL} \times 10^{-3}$$

$$X = 5 \text{ mL} \times 10^{-3}$$

$$X = 5 \mu\text{L}.$$

Dapat disimpulkan bahwa tiap pengambilan 5  $\mu\text{L}$  didapatkan konsentrasi TEL sebesar 100  $\mu\text{g}$ . Maka:

- untuk kalibrasi 100  $\mu\text{g}$  dibutuhkan 5  $\mu\text{L}$ .
- untuk kalibrasi 200  $\mu\text{g}$  dibutuhkan 10  $\mu\text{L}$ .
- untuk kalibrasi 300  $\mu\text{g}$  dibutuhkan 15  $\mu\text{L}$ .

Akan tetapi setelah di aplikasikan pada Lembar KLT, bercak TEL pada konsentrasi 100  $\mu\text{g}$  kurang terlihat jelas pada semua gelombang kecuali pada gelombang 4. Sehingga agar bercak TEL bisa tampak lebih jelas, konsentrasi kalibrasi TEL yang digunakan adalah 200  $\mu\text{g}$ , 300  $\mu\text{g}$ , dan 400  $\mu\text{g}$ .

3. Menyiapkan kalibrasi menggunakan TEL dengan konsentrasi 200  $\mu\text{g}$ , 300  $\mu\text{g}$ , dan 400  $\mu\text{g}$ .

4. TEL yang tersedia adalah 150 mg dalam 1 mL. Lalu TEL diambil 0,1 mL (15 mg), kemudian diencerkan dengan penambahan campuran kloroform-metanol 2:1 sebanyak 0,65 mL. Sehingga didapatkan 0,75 mL = 15 mg. Maka untuk mendapatkan konsentrasi 200 µg, 300 µg, dan 400 µg, digunakan perhitungan:

X = volume yang dibutuhkan

$$X/0,75 \text{ mL} \times 15 \text{ mg} = 200 \text{ µg}$$

$$X/0,75 \text{ mL} \times 15 \text{ mg} = 200 \text{ mg} \times 10^{-3}$$

$$X = 200 \times 0,75 \text{ µL}/15 = 10 \text{ µL}$$

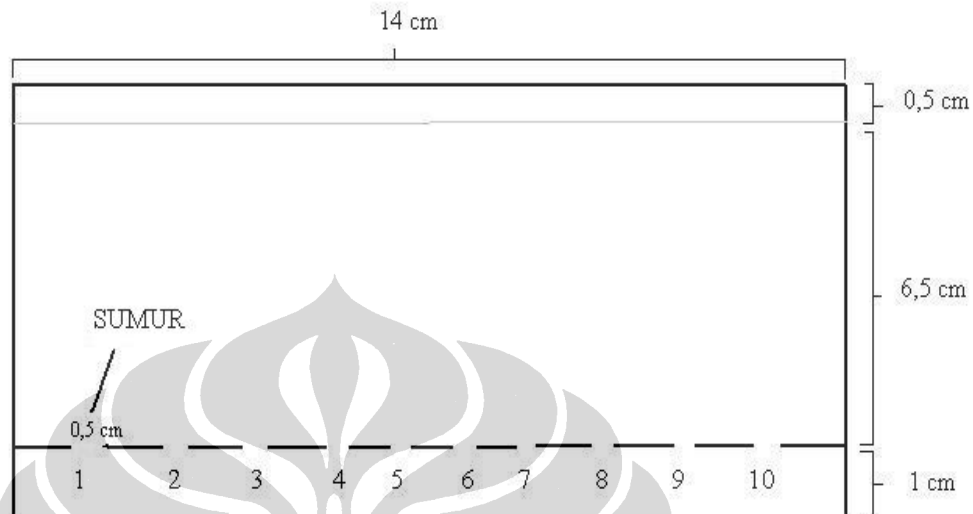
Dapat disimpulkan bahwa tiap pengambilan 10 µL didapatkan konsentrasi TEL sebesar 100 µg. Maka:

- untuk kalibrasi 200 µg dibutuhkan 10 µL.
- untuk kalibrasi 300 µg dibutuhkan 15 µL.
- untuk kalibrasi 400 µg dibutuhkan 20 µL.

#### **Tahap V – Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Untuk melihat ada atau tidaknya degradasi pada TEL, maka dilakukan KLT. Pada tahap V ini, aplikasi KLT dilakukan bersama-sama pada lembar KLT yang sama dengan semua kelompok pada penelitian induk agar ada atau tidaknya degradasi TEL pada semua kelompok dapat terlihat secara berurutan.

1. Menyiapkan lembar KLT dengan ukuran seperti dibawah ini



Gambar 4. Lembar KLT

Keterangan gambar:

- a. **Sumur 1 : Kalibrasi 1 \***
- b. **Sumur 2 : Kalibrasi 2 \***
- c. **Sumur 3 : Kalibrasi 3 \***
- d. **Sumur 4 : Kontrol\***
- e. **Sumur 5 : Kontrol dengan TEL\***
- f. Sumur 6 : Perlakuan 30 menit
- g. **Sumur 7 : Perlakuan 1 jam \***
- h. Sumur 8 : Perlakuan 2 jam
- i. Sumur 9 : Perlakuan 4 jam
- j. Sumur 10 : Perlakuan 8 jam

\* Merupakan sumur yang penulis analisis dan akan dibahas di bab selanjutnya.

2. Meringkan lembar KLT dengan aliran udara panas (*hairdier*).
3. Mengaplikasikan kalibrasi sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan diatas ke dalam sumur.

4. Melarutkan supernatan V kelompok kontrol, kontrol dengan TEL, dan perlakuan dengan 300  $\mu$ L campuran kloroform-metanol 2:1.
5. Mengaplikasikan supernatan yang telah dilarutkan sebanyak 20  $\mu$ L ke dalam sumur yang sesuai menggunakan *microliter syringe* Hamilton.
6. Menyiapkan *chamber* dan tutupnya dengan ukuran yang sesuai.
7. Menyiapkan eluen berupa campuran kloroform-etanol 6:4.

Merujuk pada penelitian terdahulu mengenai liposom EPC-TEL 2,5 yang dilakukan oleh Purwningsih, pada awalnya eluen/ fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah campuran kloroform-etanol dengan perbandingan 9:1. Namun pada pengujian yang dilakukan sebelum penelitian ini didapatkan bahwa dengan perbandingan eluen 9:1, bercak lipid naik terlalu cepat sehingga melewati garis batas akhir elusi. Untuk mengatasnya, maka perbandingan eluen diubah menjadi 6:4.

8. Menyiapkan tembaga asetat 3% dan asam fosfat 8% sebagai pewarna.
9. Memasukkan kertas saring ke dalam *chamber* dengan posisi diatur sedemikian rupa agar melapisi alas dan dinding *chamber*
10. Memasukkan eluen ke dalam *chamber* lalu tutup *chamber* dan tunggu hingga kertas saring menjadi jenuh
11. Memasukkan dan memposisikan lembar KLT sedemikian rupa kedalam *chamber* sehingga sumur-sumur yang berisi kalibrasi dan sampel tidak tercelup.



Gambar 5. Posisi lembar KLT, kertas saring, dan eluen pada *chamber*<sup>22</sup>

12. Menutup chamber dengan rapat dan mengamati dengan seksama pergerakan eluen pada lembar KLT.
13. Mengangkat lembar KLT ketika eluen telah mencapai garis akhir yang ditentukan
14. Mengeringkan lembar KLT
15. Mencilupkan lembar KLT ke dalam pewarna selama 10 detik
16. Mengeringkan lembar KLT pada suhu ruangan hingga kering
17. Memasukkan lembar KLT ke dalam *oven* selama 10 menit dengan suhu 180°C. Karena berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Purwaningsih, bercak TEL tidak muncul sebelum dipanaskan dengan suhu 180°C.
18. Mengeluarkan lembar KLT dari dalam *oven*.
19. Melakukan pemindaian lembar KLT dengan menggunakan *scanner*.
20. Mengolah data yang diperoleh dari hasil pemindaian dengan menggunakan program Adobe Photoshop 7.0.
21. Menilai hasil yang tampak pada lembar KLT dan menganalisisnya.

### 3.10. Manajemen dan Analisis Data

Tabel 2. Manajemen dan Analisis Data

	Langkah	Jawaban
1	Variabel yang dihubungkan	Variabel yang dihubungkan adalah durasi liposom pada mencit (nominal) dan terdegradasi atau tidaknya TEL (nominal)
2	Jenis hipotesis	Komparatif
3	Masalah skala variabel	Kategorik
4	Berpasangan / tidak berpasangan	Tidak berpasangan
5	Jenis tabel B x K	2 x 2
	Kesimpulan: Jenis tabel pada penelitian ini adalah 2 x 2. Uji yang digunakan adalah uji <i>chi square</i> bila memenuhi syarat. Bila tidak memenuhi uji <i>chi square</i> , maka akan dilakukan Fisher.	

Akan tetapi pada penelitian ini hasil yang diperoleh tidak dapat dianalisis secara statistik sehingga tidak ada uji hipotesis yang digunakan.

### **3.11. Masalah Etika**

Sampai saat ini di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI) belum terdapat komisi etik yang menangani penelitian yang menggunakan subjek hewan. Di FKUI hanya terdapat komisi etik yang menangani penelitian dengan objek manusia. Sehingga surat persetujuan etik untuk penelitian ini belum dapat diperoleh.

